

BIODEGRADABLE GUIDE CHANNELS FOR USE IN TISSUE REPAIR AS SURGICAL AIDS**Publication number:** JP7509386T**Publication date:** 1995-10-19**Inventor:****Applicant:****Classification:**

- international: A61B17/04; A61F2/02; A61L27/00; A61L31/00; A61L31/04; A61L31/12; A61L31/16; A61B17/04; A61F2/02; A61L27/00; A61L31/00; A61L31/04; A61L31/12; A61L31/14; (IPC1-7): A61L31/00; A61B17/04; A61L27/00

- European: A61F2/02; A61L31/04F10; A61L31/12D10; A61L31/16

Application number: JP19940505011T 19930803

Priority number(s): WO1993EP02066 19930803; IT1992PD00144 19920803

Also published as:

→ WO9403212 (A1)
EP0652778 (A1)
EP0652778 (A0)
EP0652778 (B1)
ES2144460T (T3)

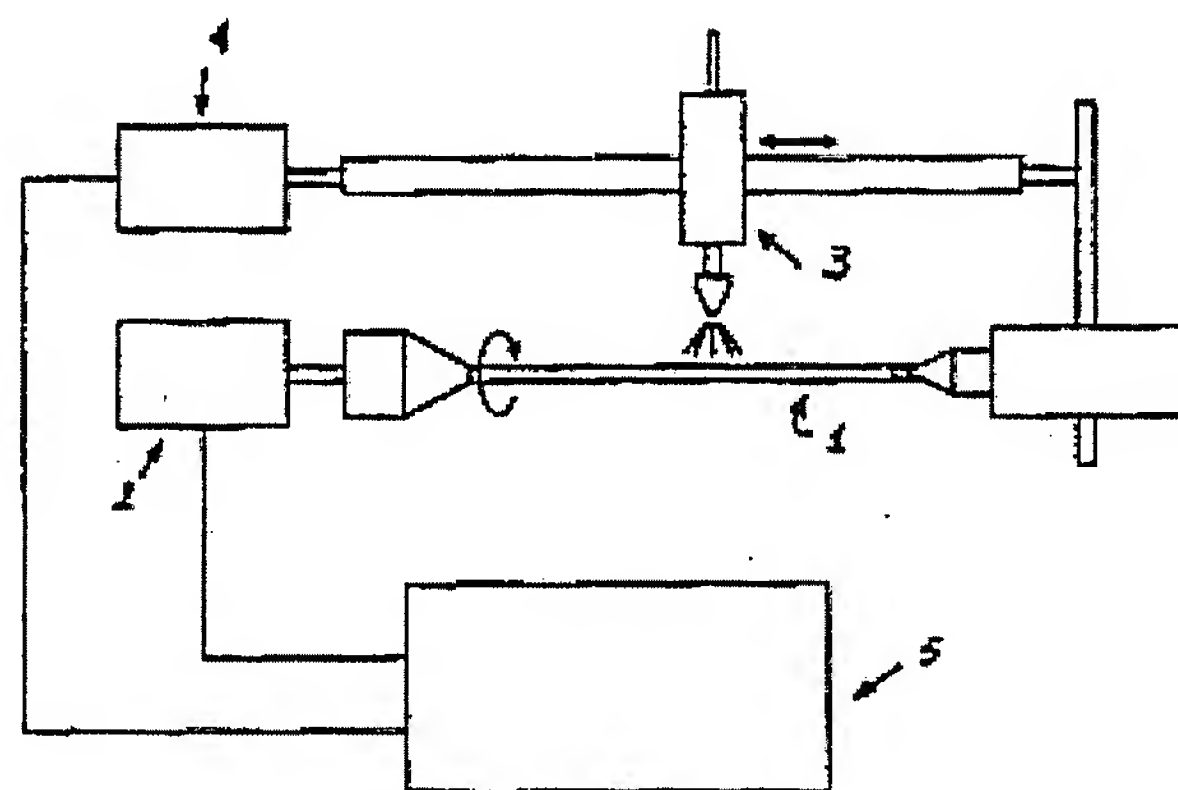
more >>

[Report a data error here](#)

Abstract not available for JP7509386T

Abstract of corresponding document: **WO9403212**

Medical devices are disclosed, comprising biodegradable guide channels for use in repair and regeneration of nerve tissue. The guide channels comprise interlaced threads embedded in a matrix optionally containing active factors, wherein both the matrix and the threads comprise biocompatible and bioabsorbable esters of hyaluronic acid.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

BIODEGRADABLE GUIDE CHANNELS FOR USE IN TISSUE REPAIR AS SURGICAL AIDS

Publication number: WO9403212

Publication date: 1994-02-17

Inventor: DORIGATTI FRANCO (IT); FAVARO GIORGIO (IT); CALLEGARO LANFRANCO (IT); ROMEO AURELIO (IT)

Applicant: FIDIA SPA (IT); DORIGATTI FRANCO (IT); FAVARO GIORGIO (IT); CALLEGARO LANFRANCO (IT); ROMEO AURELIO (IT)

Classification:

- international: A61B17/04; A61F2/02; A61L27/00; A61L31/00; A61L31/04; A61L31/12; A61L31/16; A61B17/04; A61F2/02; A61L27/00; A61L31/00; A61L31/04; A61L31/12; A61L31/14; (IPC1-7): A61L31/00; A61B17/11

- European: A61F2/02; A61L31/04F10; A61L31/12D10; A61L31/16

Application number: WO1993EP02066 19930803

Priority number(s): IT1992PD00144 19920803

Also published as:

EP0652778 (A1)
EP0652778 (A0)
EP0652778 (B1)
ES2144460T (T3)
CA2140888 (C)

more >>

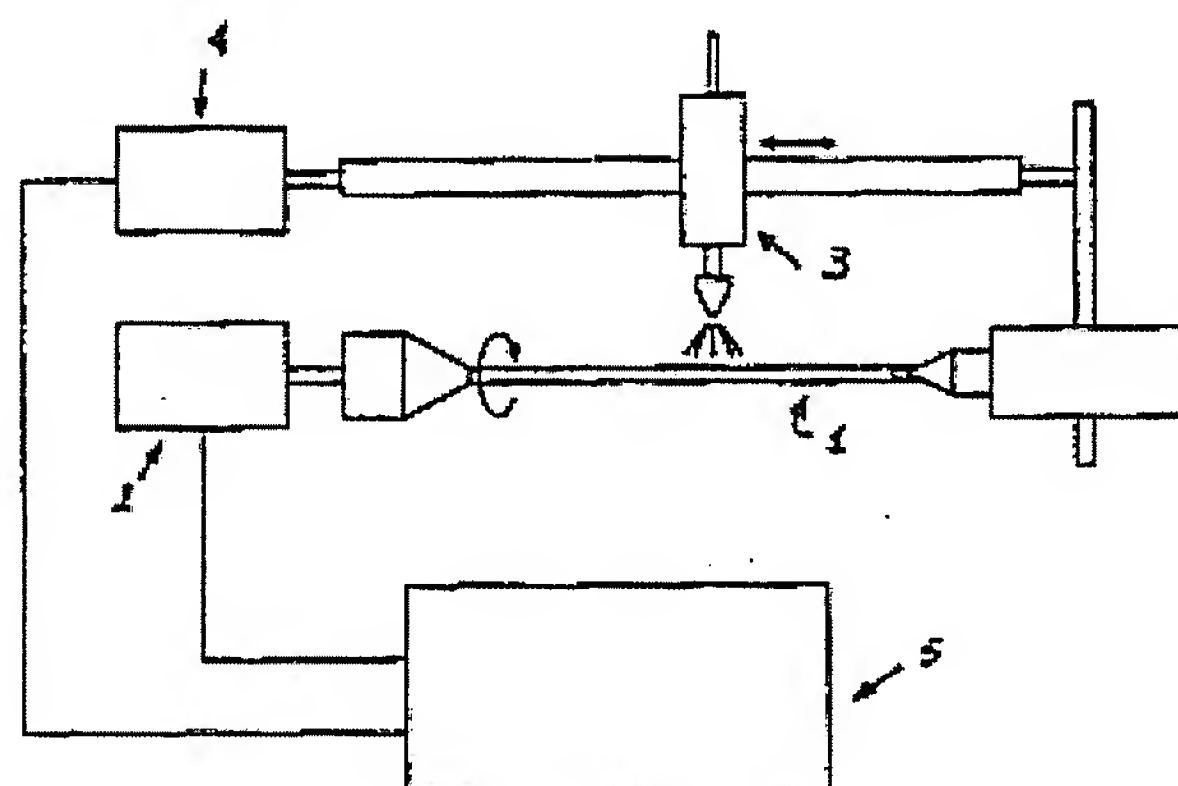
Cited documents:

WO9213579
WO9311805
WO9005552
WO8900431

[Report a data error here](#)

Abstract of WO9403212

Medical devices are disclosed, comprising biodegradable guide channels for use in repair and regeneration of nerve tissue. The guide channels comprise interlaced threads embedded in a matrix optionally containing active factors, wherein both the matrix and the threads comprise biocompatible and bioabsorbable esters of hyaluronic acid.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平7-509386

第1部門第2区分

(43) 公表日 平成7年(1995)10月19日

(51) Int. Cl.

識別記号

庁内整理番号

F I

A 6 1 L 31/00

T 7019-4C

A 6 1 B 17/04

A 6 1 L 27/00

Q 7019-4C

7507-4C

A 6 1 B 17/04

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願平6-505011
 (86) (22) 出願日 平成5年(1993)8月3日
 (85) 翻訳文提出日 平成7年(1995)2月3日
 (86) 国際出願番号 P C T / E P 9 3 / 0 2 0 6 6
 (87) 国際公開番号 W O 9 4 / 0 3 2 1 2
 (87) 国際公開日 平成6年(1994)2月17日
 (31) 優先権主張番号 P D 9 2 A 0 0 0 1 4 4
 (32) 優先日 1992年8月3日
 (33) 優先権主張国 イタリア (I T)

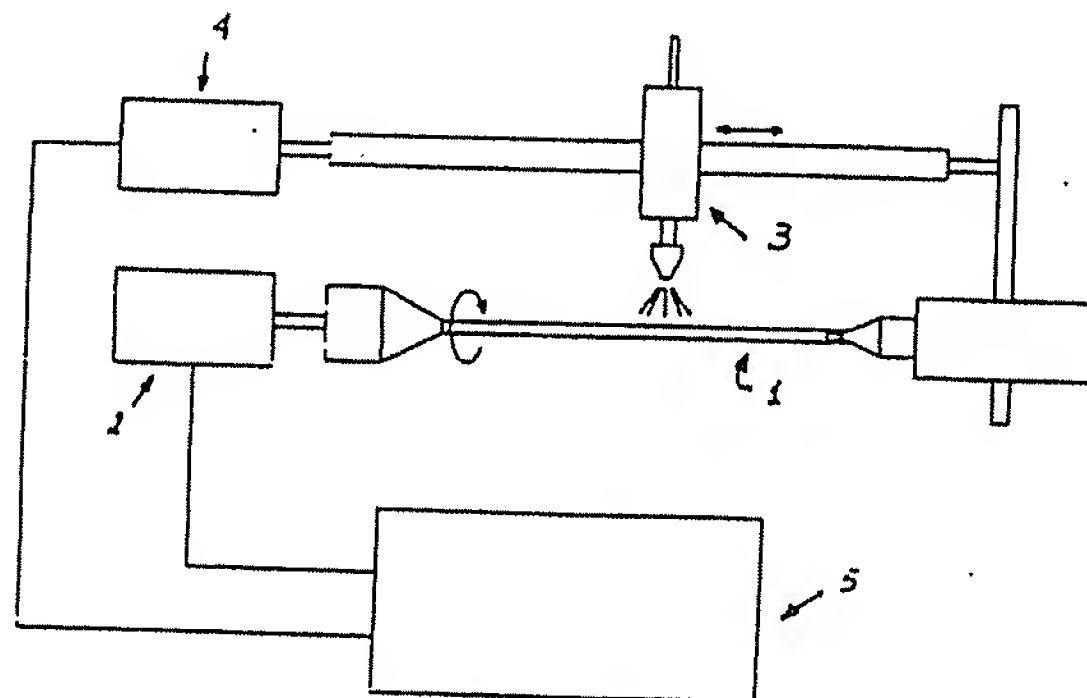
(71) 出願人 フィディーア・ソシエタ・ベル・アチオニ
 イタリア35031アバーノ・テルメ、ピア・
 ボンテ・デッラ・ファブリーカ3/A番
 (72) 発明者 ドリガッティ, フランコ
 イタリア、トレント、38015ラビス、ピ
 ア・セガンティーニ23番
 (72) 発明者 ファバロ, ジョルジオ
 イタリア、ベネチア、ドロ、ピア・ピカソ
 12番
 (72) 発明者 カッレガロ, ランフランコ
 イタリア、パドバ、35020ボンテ・ディ・
 プレンタ、ピア・ブラビィ35番
 (74) 代理人 弁理士 青山 葆 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 外科的補助具として組織の修復に用いるための生物分解性ガイドチャネル

(57) 【要約】

神経組織の修復及び再生に使用するための生物分解性のガイドチャネルを含む医療装置。該医療装置は、所望により活性因子を含有するマトリックスに埋め込まれた織り合わされた糸からなり、マトリックスと糸のいずれも生物適合性で生物吸収性のヒアルロン酸エステルを含有する。



請 求 の 範 囲

1. 損傷を受けた神経組織の治療に用いられる医療装置であって、
生物適合性、生物吸収性のヒアルロン酸の水不溶性エステルからなるマトリックス；
生物適合性、生物吸収性の水不溶性ヒアルロン酸エステルからなる織り合わされた糸で構成された管状の補強構造；及び、所望により、
少なくとも1個の生物学的又は薬理学的に活性な分子を含有する管状の生物適合性かつ生物吸収性複合体を含む医療装置。
2. 該ヒアルロン酸のエステルが、ヒアルロン酸と薬理学的に不活性なアルコールとの全または部分エステルである請求項1記載の医療装置。
3. 該アルコールが脂肪族、アラリファティック、脂環式、又はヘテロ環式アルコールである請求項2記載の医療装置。
4. 該脂肪族アルコールがC₁₋₁₂脂肪族アルコールである請求項3記載の医療装置。
5. 該エステルがヒアルロン酸の全エステルである請求項1～4のいずれかに記載の医療装置。
6. 該エステルがヒアルロン酸の部分エステルである請求項1～4のいずれかに記載の医療装置。
7. 該脂肪族アルコールがベンジルアルコールである請求項3記載の医療装置。
8. 該ヒアルロン酸のエステルが、ベンジルアルコールで75%エステル化されたヒアルロン酸のエステルである請求項1記載の医療装置。
9. 該生物学的又は薬理学的に活性な分子が損傷組織の成長、再生、及び/又は損傷組織の修復を増大及び/又は刺激する分子である請求項1～8のいずれかに記載の医療装置。
10. 該生物学的又は薬理学的に活性な分子が、神経成長因子、酸型又は塩基型の基本的な線維芽細胞成長因子、毛様体神経親和性因子、生物学的に活性な先端

ン酸エステルの溶液によって被覆することを含む方法。

20. 該被覆が該溶液をスプレーすることにより行われる請求項19記載の方法。
21. 該少なくとも1個の生物学的又は薬理学的に活性な分子が、該管状補強構造を構成する該糸と一緒に押し出される請求項1記載の医療装置。

特 表 平 7-509386 (2)

を切断された毛様体神経親和性因子、脳由来神経親和性因子、ニューロトロフィン-3、ニューロトロフィン-4、ガングリオシッド、ガングリオシッド誘導体、ガングリオシッド混合物、ガングリオシッド誘導体の混合物、及びこれら任意の物の混合物から構成される群から選択される少なくとも1つの構成員である請求項9記載の医療装置。

11. 該織り合わされた糸のデニールが約120デニールから約600デニールの範囲、破壊に対する引っ張り強度が約0.6g/デニールから約3.5g/デニールの範囲、最小伸び率が約3%から約10%の範囲であり、糸の数が約8から約16の範囲である請求項1記載の医療装置。
12. 長さが約5から約150mmの範囲、内径が約1から約15mmの範囲、厚みは約50から約1,000μmの範囲、そして重さが約8から80mgの範囲であり、4-40mg/cmに相当する請求項11記載の医療装置。
13. 長さが20mm、内径が1.5-3mm、厚みが400μm、そして重さが20mgであり、10mg/cmに相当する請求項12記載の医療装置。
14. 手術及び顕微手術における請求項1記載の医療装置の使用。
15. 該医療装置が、物質の中断及び/又は損失が起きた状態の解剖学的部位に用いられる、請求項14記載の使用。
16. 解剖学的部位が、損傷された末梢神経又は損傷された腱である請求項15記載の使用。
17. 該医療装置が神経の再生のために、又は神経縫合術における補助剤として用いられる、請求項16記載の使用。
18. 該医療装置が、術後の癒着とその再発を防止するために用いられる、請求項15記載の使用。
19. 請求項1記載の医療装置の製造方法であって、生物適合性、生物吸収性の水不溶性ヒアルロン酸エステルからなる織り合わされた糸からなる該管状補強構造を、最小回転数100rpmで回転している管状補強構造を保持している電気研磨したスチールシリンダーを用いて、所望により少なくとも1個の生物学的又は薬理学的に活性な分子を含有する、生物適合性、生物吸収性の水不溶性ヒアル

明 細 書

外科的補助具として組織の修復に用いるための生物分解性ガイドチャネル

発明の背景

技術分野

本発明は生物分解性のガイドチャネル（案内通路）、その製造方法、及びそれらの様々な外科適用の方法、特に、物質の中断及び/又は損失が起きた状態の解剖学的な部位の顕微手術における使用方法に関する。

関連技術の説明

治療、とりわけ末梢神経の断裂及び物質の中断及び/又は損失が起きた状態の様々な解剖学的部位を治療するための代替外科術、例えば、腱手術の研究は、文献に記載されている。従来行われてきた研究の大多数は、以下に詳述するように、末梢神経の外傷の治療に特に焦点が当てられていた。しかしながら、現在では、腱手術に特別な関心が払われており、該手術では、断裂状態を惹起するセラチンチューブ、セロファン、ポリエチレン構造の使用が記載されている。より最近では、再生された、酸化セルロースからなる物質が研究されている [Weislin R. J. et al., J. of Applied Biomaterials 1, 13-19, 1990]。

しかしながら、そのような研究のかなりの部分で、末梢神経の外傷の治療に際した、損傷神経の再生における支持体として用いるためのガイドチャネル又は管状（チューブ状）代替品の使用に焦点が当てられている。

これらの管状代替品は、切断された神経の2つの端を互いに近位に位置させることにより、これら神経が適当な生物学的条件下で再生できるようにするものである。さらに、これらのチューブは結合組織と関連した浸潤の影響を阻害または遅延させる。様々な高分子又はその誘導体を用いてこれらの目的のために作成された幾つかのガイドチャネル又は代替品が既知である [Ducker et al., Vol. 28, J. Neurosurg., 582-587, 1968; Midgley et al., Vol. 19, Surgical Forum, 519-528, 1968; Lundborg et al., Vol. 41, J. Neuropath. In Exp. Neurol., 4

12-422, 1982; Molander et al., Vol. 5, Muscle & Nerve, 54-58, 1982; Uzma n et al., Vol. 9, J. Neurosci. Res, 325-338, 1983; Nyilas et al., Vol. 29, Transactions Am. Soc. Artif. Internal Organs, 307-313, 1983; 及びU.S. Patent 4,534,349, 1985]。

損傷を受けた神経の機能回復を増大するために、管状代替品が、神経修復において伝統的に使用されていた生物学的高分子及びその混合物で製造された [Madison et al., Vol. 44, Brain Res., 325-334, 1985; Yannes et al., Vol. 11, Trans. Soc. Biopat, 146, 1985; Williams et al., Vol. 264, J. Comp. Neurol, 284-290, 1987]。これら管状代替品に様々な成長因子を含有させることの可能性が研究された [Politis et al., Vol. 253, Brain Res., 1-12, 1982; Aebischer et al., PCT W090/05552]。既知の方法でこれら代替品に成長因子を含有させることの問題点は、それらが水溶液中で安定でなく、それらの半減期は神経再生の完了に必要な月でなく時間で測られていることに起因している。このような状況下、これら因子の放出をコントロールすることができず、しばしば、ポラス刑形で投与されるが、それでは神経細胞の再生に必要な刺激を十分かつ持続的に与えることができない。

管状代替品の分野における、一層進んだ段階では、それを用いて生物適合性の、及び生物分解性の代替品を製造することができる高分子の調製で示され、そのような高分子は天然高分子の化学修飾の程度、及び用いた置換物質のタイプに応じて、正しい位置に止まるものである [Favaro G. et al., XXXVI Trans. Am. Soc. Artif. Organs, W291-W294, 1990]。

この場合も、2つの神経の切れ端は結合系で管状チャンネル内に固定されている。更に、これらの材料には、神経再生のガイドを与えるという付加的な利点もあり、用いた材料が一度吸収されると、適当な環境の下で、新たな成長を起こす可能性もある。

生物適合性及び生物分解性の材料を用いてガイドチャンネルを製造する種々の方法が提案された。最も単純で迅速な方法は、生物適合性及び生物分解性の材料を適当な穴を通して押し出す方法である。

上記及びその他の、本発明の目的、特徴、及び利点は、以下の詳細な説明及び図面からよりよく理解されるであろう。これらの図面は、全て例示のみを目的としており、本発明を制限するものではなく、以下のものが含まれる。

図1は本発明の複合ガイドチャンネルの製造に用いる装置の図式である。

図2は移植後10日目に用いた実施例10の複合ガイドチャンネルのインビトロ再吸収を示す。

図3は移植後4週目に用いた実施例10の複合ガイドチャンネルの損傷神経の軸索再生を示す。

図4は実施例11のガイドチャンネルの使用による末梢神経縫合における神経の再結合を示す。術後20日目に組織学的観察を行った。

図5は実施例11のガイドチャンネルを用いて得られた移植片レベルにおける再生された軸索の存在を示す。軸索の存在は抗神経フィラメント抗体を用いて証明された。観察は術後20日目に行った。

発明の詳細な説明

以下の発明の詳細な説明は、当業者が本発明を実施することを助けるために提供される。しかしながら、本明細書で議論した、実施態様における修飾及び変化は、この新規性のある発明の精神又は範囲を越えることなく、当業者によって行われ得るので、以下の詳細な説明は、本発明を不当に制限するものと解釈してはならない。

本明細書に引用した各参考文献の内容はその全部が本明細書に引用して組み込まれる。

本発明のガイドチャンネルは、生物適合性及び生物吸収性の材料からなる、長さ約5から約150mm、好ましくは20mmであり、内径は約1から約15mm、好ましくは1.5から3mmであって、厚みは約50から約1,000µm、好ましくは400µm、そして重さは約8から80mg、好ましくは20mgであり、4-40mg/cm、好ましくは10mg/cmに相当する。

ガイドチャンネルは、補強管状構造が、一本の糸又は編まれた糸からなる、又は異なる生物適合性及び生物吸収性材料が埋め込まれている、生物適合性及び生物

ある生物適合性及び生物分解性の材料を用い、押し出し又は他の製造方法で作成されたガイドチャンネルの使用の制限は、神経断端をそれらに縫い付けたとき、多かれ少なかれ、著しく裂け易いという点にある。

従って、特別な物理化学的及び生物学的特性を有する生物適合性及び生物分解性のガイドチャンネル、とりわけ特定の解剖学的標的に対し特異的な生物活性を有する指向性（親和性）因子及び／又は化合物を含有し、そのために、末梢神経又は物質の中断及び／又は損失が起きている他の解剖学的領域であって、術後の癒着の発生及び再発を阻止する必要がある部位の手術及び顕微手術において極めて有利な、ガイドチャンネルに対する要求がある。

発明の要約

従って、本発明は、価値ある物理化学的及び生物学的特性を有する、編み上げ法で形成された、織り合わされた（織り交ぜられた）管状膜のガイドチャンネルを提供するものである。今日の技術進歩の結果、本発明の新規なガイドチャンネルは特別な抵抗性を有し、厚さを大幅に減少し、断面を様々なに変化させる可能性を有する。しかも、これらの織り合わされた管状膜は管が分解する間に放出されるよう定められた生物学的に活性な分子、例えば、末梢神経に対して高活性を有する成長因子及び／又はガイドチャンネルの解剖学的標的に特異的な活性を有する任意の物質又は化合物を含有することができる。

本発明の新規なガイドチャンネルの物理化学的及び生物学的特性は、手術及び顕微手術の広範な状況下、末梢神経レベル及び解剖学的領域のレベルでの使用に極めて有利であり、及び特に、管の主成分の物理化学的的特性のお陰で、術後の癒着の発現及び再発阻止能力によって、腱手術等において有利に用いられる。

その他の本発明の適用範囲は、以下の詳細な説明及び図面から明らかになるであろう。しかしながら、詳細な説明及び具体的な実施例は、本発明の好ましい実施態様を示しているが、この詳細な説明から、本発明の思想及び範囲内での種々の変化及び修飾は当業者にとって自明であることから、本発明の好ましい実施態様の例示のためにのみ提供されたものである。

図面の簡単な説明

吸収性のマトリックスで構成されている。結合用の糸又は手術針による破れに対する保護及びレインホースメントとして作用する補強構造は乾燥状態、又は湿った状態での通常の押し出し法で製造された糸であって、1撚り又は複数の撚りであってよく、それが生物適合性及び生物吸収性である限り、他の材料で作られた糸と撚り合わせまたは一緒にしてあってもよい糸からなる。

この糸は最小値として約120デニール（UN18517/84）、破壊（割断）に対する最小引っ張り強度は約0.6g/デニール、最小伸び率（伸長率）は約3%（UNI1932/86）である。特に好ましい抵抗構造を得る上で、織りを構成する糸の最小数は約8、好ましい数は16である。この糸のデニールは約120デニールから600デニールの間であって良く、破壊に対する引っ張り強度は約0.6g/デニールから約3.5g/デニールの間であり；最小の伸び率は約3%から約10%の間であり；管状構造を構成している糸の数は約8から約16の間であって良い。

生物適合性及び生物吸収性材料のマトリックスは、完全に補強管（チューブ）を覆っている。ガイドチャンネルの厚みを調節するため、そして特に細い製品を得るために、ガイドチャンネルをスプレー法によってポリマーマトリックスで覆っても良い。上記で討論したように、管構造及びマトリックスは生物適合性及び生物吸収性材料からなる。

これらのガイドチャンネルは、欧州特許公開第0216453及び米国特許第4,851,521号に記載のごとく、例えばヒアルロン酸（HY）の半合成誘導体、特にそのエステル誘導体のような天然の酸性多糖類から導かれる半合成材料からなる。これらの材料をして、本発明における使用に特に適当ならしめている性質は、それらが免疫原性でないために、拒絶反応を惹起しないこと、及び血栓作用を有さないということである。ヒアルロン酸の全エステル及び部分エステルのいずれから、本発明のガイドチャンネルを得ることができる。即ち、これら両者は、生体内で吸収可能であり（即ち、生物吸収性）、有機体自身の内部で分解可能であり、天然に存在するポリマーに変化される（即ち、それらは生物適合性である）ような、生成物又は生物材料を形成することにおいて著しい利点を有する水不溶

性生成物である。そのようなHYエステルは環状レインホースメント構造と同様、包囲するポリマーマトリックスの両者を形成するために用いることができる。

更に、必要に応じて、本発明に従ってガイドチャネルを作成するために用いることができる生物学的に活性な分子には、損傷組織の再生、成長及び/又は修復を増進又は刺激する因子がある。実際、神経の再生を刺激し促進する様々な因子が既知である [Folicke et al., Vol. 83, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 3012-3016, 1986; Rydel et al., Vol. 1, J. Neurosci. 3639-3653, 1988; Levi Montalcini; Vol. 237, Science, 1154-1162, 1987及び該参考文献に記載の参考文献; Br ooker et al., Muscle and Nerve 13, 785-800, 1990]。

そのような成長因子には、神経成長因子 (NGF)、酸型又は塩基型の基本的な (basic) 神経芽細胞成長因子 (FGF)、毛様体神経親和性因子 (CNTF)、脳由来神経親和性因子 (BDNF)、ニューロトロフィン-3 (NT-3) 及びニューロトロフィン-4 (NT-4) がある。そのような成長因子は組織換えDNA法で得ることができ、それらは先端が切断された形、キメラ形又は単量形で用いることができる。

更に、本発明のガイドチャネルは、該ガイドチャネルが用いられる解剖学的標的に特異的な生物活性を有する化合物を含有することができ、例えば、損傷神経のためのガイドチャネルの場合、EP 0 0 7 2 7 2 2に記載の天然のガングリオシド又は該ガングリオシドの内部エステル、又はEP 0 1 6 7 4 4 9に記載のガングリオシドのエステル又はアミド誘導体のような構造を含有する分子の使用が有益である。

これらの生物学的に活性な分子は、補強構造を構成する糸と一緒に押し出すか、それらをマトリックス溶液に溶解することにより、ガイドチャネルに挿入することができる。

本発明のガイドチャネルの型製

本発明のガイドチャネルは糸を織り合わせることで静的及び動的ストレスの両者に対して特に抵抗力のある構造を得る方法により製造される。用いられる方法によって、糸はスレッディングマシン (織り機) に適したボビンに巻く。用いる

ボビンの数は最終のガイドチャネルに必要な抵抗力、長さ及びサイズにより8から16の間で変化する。ボビンを機械の上におき、次いで、スイッチを入れる。内部が織られた管状生成物を、次いで、200mmの切片に切断し、スチール棒 (AISI 316 電気研磨) 上に置く。この装置を図1に図示する。

図1に記載の機械を用い、内部が織られた管をその回りに巻き付けたスチール棒を (1) その軸の上に取り付け、(2) モーターにより回転させる。高分子マトリックスは高分子溶液を回転系に広げた後、過剰分を除くか、モーター (4) によってスチール棒を上下させる、(3) と表示されたスプレーによって溶液をスプレーすることにより、適用される。この最後のシステムはガイドチャネルの厚みをよりよく制御し、極めて薄いガイドチャネルが作成できるようにする。

モーター類は自動システム (5) で作動する。

例示の目的により、以下に、本発明のガイドチャネルを得るに有用な材料、装置及び操作の概つかを記載する。

ヒアルロン酸のエステル

本発明に有用なヒアルロン酸のエステルは、ヒアルロン酸と脂肪族、アラリファティック (araliphatic)、脂環式、又は複素環式アルコールのエステル [ここに、ヒアルロン酸のカルボキシル基の全て (いわゆる「全」エステル) 又は1部 (いわゆる「部分」エステル) がエステル化されている]、及び部分エステルの、薬理学的観点から生物適合性又は許容性の金属又は有機塩基との塩である。

有用なエステルは、それら自身が顕著な薬理作用を持たないアルコールから導かれるエステルであることが好ましく、例えば、脂肪族系列の飽和アルコール又は脂環式アルコール系列の単純なアルコールから導かれるエステルである。

幾つかのカルボキシル基が遊離状態にある上記のエステル (即ち、部分エステル) において、これらはアルカリ金属又はアルカリ土類金属、又はアンモニア又は含窒素有機塩基などによって塩化されていてもよい。

大多数のヒアルロン酸 (「HY」) のエステルは、HY自身と異なり、有機溶媒に、ある程度、可溶性である。この溶解性はエステル化されているカルボキシル基の数、及びカルボキシルと結合しているアルキル基の型による。従って、そ

の全カルボキシル基がエステル化されているHY化合物は、室温で、例えば、ジメチルスルホキシドなどによく溶ける (HYのベンジルエステルはDMSOに200mg/mlで溶ける)。HYの全エステルの大部分は、HY、特にその塩と異なり、水に溶けにくく、基本的に水不溶性である。この溶解特性は、特別で注目すべき粘弾性と共に、HYエステルを神経ガイドチャネルとしての使用を好ましいものとしている。

本発明のガイドチャネルとして用いられるヒアルロン酸のカルボキシル基のエステル化成分として用いられる脂肪族アルコールには、例えば、最大34炭素原子の、飽和又は不飽和のアルコール、それは又、他の遊離官能基又は機能的に修飾された基によって置換されていてもよく、即ち、アミン、ヒドロキシル、アルデヒド、ケトン、メルカプタン又はカルボキシル基、又はヒドロカルビル又はジ-ヒドロカルビルアミン基 (「ヒドロカルビル」という語句は、 C_nH_{2n+1} 型の1価の炭化水素基のみならず、「アルキレン」(C_nH_{2n}) 又は「アルキリデン」(C_nH_{2n+2}) のような2価又は3価の基を指すためにも用いる) から導かれる基、エーテル又はエステル基、アセタール又はケタール基、チオエーテル又はチオエステル基、及びエステル化カルボキシル又はカルバミド基及び1又はそれ以上のヒドロカルビル基、ニトリル基、又はハロゲン基で置換されているカルバミド基、又はニトリル基、又はハロゲンで置換されていてもよい。

上記のヒドロカルビル基を含有する基の内、最大炭素数6個のアルキルのような低級脂肪族基が好ましい。そのようなアルコールは、又、炭素原子数が酸素、窒素、及び硫黄などのヘテロ原子によって中断されていてもよい。1又は2個の該機能的な基で置換されたアルコールが好ましい。

上記のアルコールの内、使用するに好ましいものは、炭素原子数が最大12個、特に好ましいのは炭素原子数が6個のものであり、上記のアミン、エーテル、エステル、チオエーテル、チオエステル、アセタール、又はケタール基におけるヒドロカルビル原子が最大4個の炭素原子を有するアルキル基を表しているものである。エステル化されたカルボキシル基又は置換カルバミド基において、ヒドロカルビル基は同じ数の炭素原子からなるアルキルであり、ここにアミン又はカル

バミド基において、最大炭素原子数8個のアルキレンアミン又はアルキレンカルバミド基である。これらのアルコールの内、特に好ましいのは飽和及び不飽和アルコール、例えば、メチル、エチル、プロピル、及びイソプロピルアルコール、n-ブチルアルコール、イソブチルアルコール、tert-ブチルアルコール、アミル、ペンチル、ヘキシル、オクチル、ノニル、及びドデシルアルコール、及び就中、例えばn-オクチル、及びドデシルアルコールなどの直鎖アルコールである。この群の置換アルコールの内、エチレングリコール、プロピレングリコール、及びブチレングリコールのような2価アルコール、グリセリンのような3価アルコール、タルトロンアルコールのようなアルデヒドアルコール、乳糖のようなカルボン酸アルコール、例えば、グリコール酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸など、アミノアルコール、例えば、n-アミノエタノール、アミノプロパノール、n-アミノブタノール、及びそれらのアミン基におけるジメチル又はジエチル化誘導体、コリン、ピロリジニルエタノール、ピペリジニルエタノール、ピペラジニルエタノール及びn-プロピル又はn-ブチルアルコールの対応する誘導体、モノチオエチレングリコール又はそのアルキル誘導体、例えばメルカプタン官能基におけるエチル誘導体などが好ましい。

高級飽和脂肪族アルコールの内、好ましいのは、セチルアルコール及びミリスチルアルコールであるが、本発明の目的のためには、1又はそれ以上の2重結合を有する高級不飽和アルコール、特に、多くの必須油に含有されており、テルペンと親和性を有するもの、例えば、シトロネロール、ゲラニオール、ネロール、ネオリドール、リナロール、ファルネソール、及びフィトール等、が特に重要である。不飽和低级アルコールの内、アリルアルコール及びプロパルギルアルコールについて考慮する必要がある。アラリファティックアルコールの内、好ましいのは、ベンゼン基を1個のみ有するものであり、脂肪族が最大4個の炭素原子を有し、ここにベンゼン基は1〜3個のメチル又はヒドロキシル基で置換されているか、あるいはハロゲン原子、特に、塩素、臭素、及びヨウ素によって置換されており、ここに、脂肪族は遊離アミン基又はモノ又はジメチル化アミン基からなる群から選択される1又はそれ以上の官能基、又はピロリジン又はピペリジ

ン基で置換されていてもよい。これらのアルコールの内、最も好ましいのはベンジルアルコール及びフェニルアルコールである。

脂環式又は脂肪族-脂環式系列のアルコールは単環又は多環式の炭化水素であって、好ましくは最大炭素原子数34で、非置換の炭化水素から導かれ、脂肪族アルコールに関して上記で述べたような置換基を1またはそれ以上、有していてもよい。単環式環状炭化水素から導かれるアルコールの内、好ましいのは、最大炭素原子数が12個、好ましくは環の炭素原子数が5〜7個であり、例えば、メチル、エチル、プロピル又はイソプロピル基のような1〜3個の低級アルキル基で置換されているものである。この群の具体的なアルコールとして、以下のものが最も好ましい：シクロヘキサノール、シクロヘキサジオール、1, 2, 3-シクロヘキサントリオール及び1, 5-シクロヘキサントリオール（フロログルシトール（phloroglucitol））、イノシトール、及びカルボメントール、メントール、 α -テルピネオール、1-テルピネオール、4-テルピネオール及びビペリトールのようなp-メタンから導かれるアルコール、又はこれら「テルピネオール」として知られているアルコールの混合物、1, 4-, 及び1, 8-テルピン。ツヤン、ピナン、又はコンファン等の縮合環を有する炭化水素から導かれるアルコールの内、以下のものが好ましい：ツヤノール、サビノール、ピノール水和物、D-及びL-ボルネオール、及びD-及びL-イソボルネオール。

本発明のHYエステルの製造方法

方法A：

ヒアルロン酸のエステルはカルボン酸のエステル化に関する自体既知の方法、例えば、遊離のヒアルロン酸を強無機酸又は酸型のイオン交換物質等の触媒物質の存在下で処理するか、あるいは所望のアルコール残基を無機又は遊離塩基の存在下に導入することによる触媒物質の存在下で処理することにより行うことができる。エステル化剤としては、文献記載の物、とりわけ、種々の無機酸のエステル又は有機スルホン酸のエステル、例えば、ヒドラシッド(hydracides)類、即ちヒドロカルビルハロゲン化物、例えばメチル又はエチルアイオダイド、又は中性スルフェート又はヒドロカルビル酸、サルファイト、カーボナート、シリケート、

沸点の物、例えばヘキサフルオロイソプロパノール、トリフルオロエタノール、及びN-メチルピロリドンも考慮されるべきである。

反応は好ましくは温度範囲約0℃から100℃の間、特に約25℃から75℃の間、例えば、約30℃で行われる。

エステル化は、好ましくは、エステル化剤を上記のアンモニウム塩と上記の溶媒の1つ、例えば、ジメチルスルホキシドに徐々に加えることで行われる。

アルキル化剤としては、上記の物、特にヒドロカルビルハロゲン、例えばアルキルハロゲンを用いることができる。出発物質である4級アンモニウム塩としては、アルキル基、好ましくは炭素原子数が1〜6個のアルキル基を有する低級アンモニウムテトラアルキレートを用いることが好ましい。大多数の場合、テトラブチルアンモニウムのヒアルロナートを用いる。これらの4級アンモニウム塩は、ヒアルロン酸の金属塩、好ましくは上記のいずれか、とりわけナトリウム又はカリウム塩を、塩化スルホン樹脂を含有する水性溶媒中、4級アンモニウム塩基と反応させることにより、調製することができる。

先に記載した方法の1つの変形は、ジメチルスルホキシドのような適当な溶媒中に懸濁したヒアルロン酸のカリウム又はナトリウム塩を適当なアルキル化剤と、触媒量の4級アンモニウム塩、例えば、テトラブチルアンモニウムのヨウ化物の存在下で反応させる。

ヒアルロン酸エステルの製造のために、例えば、天然の出発物質、例えば雄鶏のとさか、から抽出した酸など、任意の起源のヒアルロン酸を用いることができる。そのような酸の調製は文献に記載されており、好ましくは、精製ヒアルロン酸を用いる。特に用いられるのは、広範な分子量域を有する、有機材料からの抽出で直接得られる総合的な酸の分子フラクションからなるヒアルロン酸であり、例えば、分子量が1300万の総合的な酸の約90%〜80% (MW=1170〜1040万) から0.2% (MW=30,000)、好ましくは5%〜0.2%の範囲の分子フラクションからなるものである。そのようなフラクションは文献記載の様々な方法、例えば、加水分解、酸化、酵素的又は物理的工程、機械的又は放射的な方法で得ることができる。従って、根源的（初めから存在する）な

フォスファイト、ヒドロカルビルスルホナート、例えばメチルベンゼン又はp-トルエンスルホナート又はメチル又はエチルクロソルホナートなどが使用可能である。反応は適当な溶媒、例えばアルコール、好ましくはカルボキシル基に導入されるべきアルキル基に対応するアルキル中で行われる。しかしながら、反応は又、非極性溶媒、例えば、ケトン、エーテル、例えばジオキサン、又は中性溶媒、例えば、ジメチルスルホキシド等を用いて行うことができる。塩基としては、例えば、アルカリ金属又はアルカリ土類金属の水和物、又はマグネシウム又は鋳酸化物又はこれら金属のいずれかの塩基性塩、例えば、カーボナート、及び、有機塩基、ピリジン又はコリジンのような3級アゾ化塩基 (tertiary azotized base) がある。塩基の代わりに、塩基型のイオン交換樹脂を用いることもできる。

他のエステル化法では、金属塩又は有機アゾ化塩基の塩、例えば、アンモニウム又はアンモニウム置換塩を用いる。好ましくは、アルカリ又はアルカリ土類金属の塩を用いるが、他の任意の金属塩を用いることもできる。この場合も又、エステル化剤は上記の物であり、溶媒も同様である。例えば、ジメチルスルホキシド及びジメチルホルムアミドのような中性溶媒を使用することが好ましい。

この方法又は後述の方法で得られるエステルにおいて、部分エステルにおける遊離のカルボキシル基は、所望により、自体既知の方法で塩化されていてもよい。
方法B：

ヒアルロン酸エステルはまた、ヒアルロン酸の4級アンモニウム塩をエーテル化剤により、好ましくは中性溶媒中で処理することによっても得られる。

有機溶媒として、ジアルキルスルホキシド、ジアルキルカルボキサミド、特に低級アルキルジアルキルスルホキシド、特にジメチルスルホキシド、及び低級脂肪族の低級アルキルジアルキルアミド、例えば、ジメチル-又はジエチルホルムアミド又はジメチル-又はジエチルアセトアミドなどを使用することが好ましい。

しかしながら、必ずしも中性でない他の溶媒、例えば、アルコール、エーテル、ケトン、エステル、特に脂肪族又はヘテロ環式アルコール及びケトンであって低

抽出物は、しばしば、これらの公開された文献に記載の工程の間に形成される【例、Bakozs et al., "Cosmetics & Toiletries"の記事を参照】。得られた分子フラクションの分離及び精製は、例えば、分子過のような既知の方法で行うことができる。

さらに有用なのは、ヒアルロン酸から得ることができる精製フラクションであり、例えば、欧州特許公開第0138572に記載のものなどである。

上記の特別なエステル化工程のための出発物質である塩の調製のための上記の金属によるヒアルロン酸の塩化は、自体既知の方法、例えば、HYと計算量の塩基、例えばアルカリ水和物と反応させるか、そのような金属の塩基性塩、例えばカルボナート又はビカルボナートと反応させることにより行われる。

部分エステルにおいて、残るカルボキシル基の全て、又はその一部を塩化することは、所望の化学量論的な程度の塩化が得られるように塩基の量を処方して行うことができる。適当な程度の塩化により、広範な種々の解離定数を有するエステルを得ることができ、それは治療適用に際して、所望の溶液又は系中のpHを与えることができる。

以下は、本発明の案内通路（ガイドチャンネル）に有用なヒアルロン酸エステル類の製造を例示するものである。

実施例1 ヒアルロン酸(HY)の(部分的)プロピルエステル[50%エステル化カルボキシル基と50%(ナトリウム)塩化カルボキシル基]の製造

モノマー単位の20mEq.に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩の12.4gを、25℃でジメチルスルホキシド620mlに溶かす。プロピルアイオダイド1.8g(10.6mEq.)を加え、得られた溶液を30℃に12時間保つ。

62mlの水と9gの塩化ナトリウムを含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌下に3,500mlのアセトン内へゆっくりと注ぐ。生じた沈澱を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで3回、ついでアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を、1%の塩化ナトリウムを含む水の550mlに溶かし、この溶

液を一定の攪拌下に3,000mlのアセトン中へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水500mlで2回、アセトン500mlで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分プロピルエステル化合物が7.9g得られる。このエステル基の定量分析を、R. H. Chundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 23, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例2 ヒアルロン酸(HY)の(部分的)イソプロピルエステル[50%エステル化カルボキシル基と50%(ナトリウム)塩化カルボキシル基]の製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する160,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。イソプロピルアイオダイド1.8g(10.6m. Eq.)を加え、得られた溶液を30℃に12時間保つ。

水62ml及び塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得た混合物を一定の攪拌下にアセトン3,500ml内へ注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで3回、そしてアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を、1%の塩化ナトリウム含有の水550mlに溶かし、その溶液を一定の攪拌下にアセトン3,000mlの中へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで2回、そしてアセトン500mlで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分イソプロピルエステル化合物7.8gが得られる。このエステル基の定量分析をR. H. Cundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 33, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例3 ヒアルロン酸(HY)の(部分的)エチルエステル[75%エステル化したカルボキシル基と25%(ナトリウム)塩化したカルボキシル基]の製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する160,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。エチルアイオダイド2.5g(15.9m. Eq.)を加え、得られた溶液を30℃に12時間保つ。

ラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。メチルアイオダイド3g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3,500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のエチルエステル化合物8gが得られる。このエステル基の定量分析をR. H. Cundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 33, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例6 ヒアルロン酸(HY)のエチルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する85,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。エチルアイオダイド3.3g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3,500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のエチルエステル化合物8gが得られる。このエステル基の定量分析をR. H. Cundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 33, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例7 ヒアルロン酸(HY)のプロピルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。プロピルアイオダイド3.6g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3,500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

水62ml及び塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得た混合物を一定の攪拌下にアセトン3,500ml内へ注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで3回、そしてアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を、1%の塩化ナトリウム含有の水550mlに溶かし、その溶液を一定の攪拌下にアセトン3,000mlの中へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで2回、そしてアセトン500mlで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分エチルエステル化合物7.9gが得られる。このエステル基の定量分析をR. H. Cundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 33, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例4 ヒアルロン酸(HY)の(部分的)メチルエステル[75%エステル化したカルボキシル基と25%(ナトリウム)塩化したカルボキシル基]の製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する80,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。メチルアイオダイド2.5g(15.9m. Eq.)を加え、得られた溶液を30℃に12時間保つ。

水62ml及び塩化ナトリウム9gを含む溶液を加え、得た混合物を一定の攪拌下にアセトン3,500ml内へ注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで3回、そしてアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を、1%の塩化ナトリウム含有の水550mlに溶かし、その溶液を一定の攪拌下にアセトン3,000mlの中へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで2回、そしてアセトン500mlで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分メチルエステル化合物7.8gが得られる。このエステル基の定量分析をR. H. Cundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 33, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例5 ヒアルロン酸(HY)のメチルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する120,000の分子量のHYテ

標記のプロピルエステル化合物8.3gが得られる。このエステル基の定量分析をR. H. Cundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 33, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例8 ヒアルロン酸(HY)の(部分的)ブチルエステル[50%エステル化カルボキシル基と50%(ナトリウム)塩化したカルボキシル基]の製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する620,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩の12.4gを、25℃でジメチルスルホキシド620mlに溶かす。n-ブチルアイオダイド1.95g(10.6m. Eq.)を加え、得られた溶液を30℃に12時間保つ。

62mlの水と9gの塩化ナトリウムを含有する溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌下に3,500mlのアセトン内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで3回、ついでアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を、1%の塩化ナトリウムを含む水の550mlに溶かし、この溶液を一定の攪拌下に3,000mlのアセトン中へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水500mlで2回、アセトン500mlで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分プロピルエステル化合物が8g得られる。このエステル基の定量分析を、R. H. Chundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 23, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例9 ヒアルロン酸(HY)の(部分的)エトキシカルボニルメチルエステル[75%エステル化カルボキシル基と25%(ナトリウム)塩化したカルボキシル基]の製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する180,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩の12.4gを、25℃でジメチルスルホキシド620mlに溶かす。テトラブチルアンモニウムアイオダイド2g及びエチルクロアセテート1.84g(15m. Eq.)を加え、得られた溶液を30℃に12時間保つ。

62mlの水と9gの塩化ナトリウムを含有する溶液を加え、得られた混合物

を一定の攪拌下に3, 500mlのアセトン内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで3回、ついでアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を、1%の塩化ナトリウムを含む水の550mlに溶かし、この溶液を一定の攪拌下に3, 000mlのアセトン中へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水500mlで3回、アセトン500mlで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分エトキシカルボニルメチルエステル化合物が10g得られる。

このエトキシエステル基の定量分析を、R. H. Chundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 23, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例10 ヒアルロン酸(HY)のn-ベンジルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する620, 000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12. 4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。n-ベンジルブロマイド3. 8g(25m. Eq.)とテトラブチルアンモニウムアイオダイド0. 2gを加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のn-ベンジルエステル生成物8. 7gが得られる。このエステル基の定量分析をSiggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172に記載の方法を用いて行う。

実施例11 ヒアルロン酸(HY)のイソベンジルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170, 000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12. 4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。イソベンジルブロマイド3. 8g(25m. Eq.)とテトラブチルアンモニウムアイオダイド0. 2gを加え、その溶液を30℃に12時間

で24時間真空乾燥する。

標記のβ-フェニルエチルエステル生成物9. 1gが得られる。このエステル基の定量分析をSiggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172に記載の方法を用いて行う。

実施例14 ヒアルロン酸(HY)のベンジルエステルの製造

162, 000の分子量のHYのカリウム塩3gを200mlのジメチルスルホキシドに溶解する。テトラブチルアンモニウムアイオダイド120mg及びベンジルブロマイド2. 4gを加える。

この懸濁液を30℃で48時間攪拌する。得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル1, 000ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの150mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のベンジルエステル生成物3. 1gが得られる。このエステル基の定量分析をSiggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172に記載の方法を用いて行う。

実施例15 ヒアルロン酸の部分ベンジルエステル(HYAFF11 p10, p25, p50及びp75)の製造

ヒアルロン酸の部分ベンジルエステル(HYAFF11 P10, p25, p50及びp75)は、上述の方法Bに記載のようにして製造できる。エステル化は、適当な有機溶媒の中でエーテル化剤で処理したヒアルロン酸の4級アンモニウム塩のエステル化剤を段階的に添加することによって行うことができる。

エステル化のための出発物質の塩を製造するためのヒアルロン酸の塩化、および部分的ベンジルエステルに残存するカルボキシル基の塩化もまた方法Bに記載されている。

実施例16 ヒアルロン酸(HY)の(部分的プロピル)エステル[85%エステル化カルボキシル基と15%(ナトリウム)塩化したカルボキシル基]の製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する165, 000の分子量のHYテ

保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のイソベンチルエステル生成物8. 6gが得られる。このエステル基の定量分析をSiggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172に記載の方法を用いて行う。

実施例12 ヒアルロン酸(HY)のベンジルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170, 000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12. 4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。ベンジルブロマイド4. 5g(25m. Eq.)とテトラブチルアンモニウムアイオダイド0. 2gを加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

標記のベンジルエステル生成物9gが得られる。このエステル基の定量分析をSiggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172に記載の方法を用いて行う。

実施例13 ヒアルロン酸(HY)のβ-フェニルエチルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する125, 000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12. 4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。2-ブロモエチルベンゼン4. 8g(25m. Eq.)とテトラブチルアンモニウムアイオダイド185mgを加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃

で24時間真空乾燥する。得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。

次に62mlの水と9gの塩化ナトリウムを含む溶液を加え、得られた混合物を一定の攪拌下に3, 500mlのアセトン内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水の500mlで3回、ついでアセトンで3回洗浄し、最後に30℃で8時間真空乾燥する。

次に生成物を、1%の塩化ナトリウムを含む水の550mlに溶かし、この溶液を一定の攪拌下に3, 000mlのアセトン中へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、5:1のアセトン:水500mlで2回、アセトン500mlで3回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の部分プロピルエステル化合物が8g得られる。このエステル基の定量分析を、R. H. Chundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 23, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例17 ヒアルロン酸(HY)のn-オクチルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170, 000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12. 4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。1-ブロモオクタン4. 1g(21. 2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のオクチルエステル生成物9. 3gが得られる。このエステル基の定量分析をSiggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups" 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172に記載の方法を用いて行う。

実施例18 ヒアルロン酸(HY)のイソプロピルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170, 000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12. 4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。イソプロピルブロマイド2. 6g(21. 2m. Eq.)を加

え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のイソプロピルエステル生成物8.3gが得られる。このエステル基の定量分析を、R. H. Chundiff and P. C. Markunas [Anal. Chem. 23, 1028-1030(1961)]の方法を用いて行う。

実施例19 ヒアルロン酸(HY)の2,6-ジクロロベンジルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。2,6-ジクロロベンジルブロマイド5.08g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の2,6-ジクロロベンジルエステル生成物9.7gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

実施例20 ヒアルロン酸(HY)の4-tert-ブチルベンジルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。4-tert-ブチルベンジルブロマイド4.81g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の4-tert-ブチルベンジルエステル生成物9.8gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

く。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の3-フェニルプロピルエステル生成物9gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups" 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

実施例24 ヒアルロン酸(HY)の3,4,5-トリメトキシベンジルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。3,4,5-トリメトキシベンジルブロマイド4.6g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記の3,4,5-トリメトキシベンジルエステル生成物10gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

実施例25 ヒアルロン酸(HY)のシンナミルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。シンナミルブロマイド4.2g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のシンナミルエステル生成物9.3gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

実施例21 ヒアルロン酸(HY)のヘプタデシルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。ヘプタデシルブロマイド6.8g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のヘプタデシルエステル生成物11gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

実施例22 ヒアルロン酸(HY)のオクタデシルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。オクタデシルブロマイド7.1g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定のかくはん下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のオクタデシルエステル生成物11gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

実施例23 ヒアルロン酸(HY)の3-フェニルプロピルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。3-フェニルプロピルブロマイド4.22g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注

実施例26 ヒアルロン酸(HY)のデシルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。1-ブロモデカン4.7g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のデシルエステル生成物9.5gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

実施例27 ヒアルロン酸(HY)のノニルエステルの製造

モノマー単位の20m. Eq. に相当する170,000の分子量のHYテトラブチルアンモニウム塩12.4gを、25℃で620mlのジメチルスルホキシドに溶解する。1-ブロモデカン4.4g(21.2m. Eq.)を加え、その溶液を30℃に12時間保つ。

得られた混合物を一定の攪拌下に酢酸エチル3, 500ml内へゆっくりと注ぐ。生じた沈殿を濾過し、酢酸エチルの500mlで4回洗浄し、最後に30℃で24時間真空乾燥する。標記のノニルエステル生成物9gが得られる。このエステル基の定量分析を Siggia S. and Hanna J. G., "Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups," 4th Edition, John Wiley and Sons, pages 169-172 に記載の方法を用いて行う。

(生物学的活性因子)

本発明のガイドチャネル(ガイドチャネル)に用い得る活性因子は、特に神経組織の再生、成長および修復を高め、促進し又は刺激する因子である。例えば次の文献に記載のような神経再生を刺激し高める種々の因子が知られている。すなわち Wolicke et al., Vol. 83, Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A. 3012-3016, 1986; Rydel et al., Vol. 1, J. Neurosci. 3639-3653, 1988; Levi Montalcini,

Vol. 237, Science, 1154-1162, 1987 (そこにおける参考文献を含む) 及び Brooker et al., Muscle and Nerve 13, 785-800, 1990.

重要な成長因子は神経成長因子 (NGF) : 酸型 (a-FGF) または塩基型 (b-FGF) の繊維芽細胞成長因子 (FGF) : 毛様体神経細胞因子 (CNTF) : 脳由来の神経細胞因子 (BDNF) 及びニューロトロフィン-3 (NT-3) である。これらの成長因子の生物学的活性を増進または高めるガングリオシッドやその合成的および半合成的誘導体もある (Vantini et al., Brain Res. 448, 252-258, 1988)。有用なものは、例えば E P 特許 0 0 7 2 7 2 2 に記載のような天然に存在するガングリオシッド、内部エステルガングリオシッド誘導体や、E P 特許 0 1 6 7 4 4 9 に記載のようなガングリオシッドのエステルやアミド誘導体である。

更に言えば、成長因子は好ましくはヒト活性因子であり、組換え DNA 技術で生産することが出来る。

実施例 28 ガングリオシッド混合物 (クロナシアル [Cronassial]) の製造

蒸留水の中で粉砕し懸濁させたところの、感染したウシの脳 1000 g を、かき混ぜながら室温で約 3 時間のあいだ 300 から 600 ml のアセトン (重量/容積比 = 1 : 5) と接触させる。ついで溶液を、沈殿が完了するまで 4℃ から 7℃ の間の温度で 6000 x g で遠心分離する。溶液を除去し、適当なガラス容器の中に入れた湿った粉末にメチレンクロライド/メタノール/水酸化ナトリウムの混合物の 180-350 ml を加え、30℃ と 35℃ の間の温度で少なくとも 3 時間のあいだ再び磁気攪拌させる。最後に冷却し、+10℃ で 6000 x g で 20 分間遠心分離する。溶液相を +4℃ の温度でろ過ロートを通してろ過する。適量の塩化カルシウムとアセトンを液体に加え、約 30 分間かき混ぜ、そして +10℃ で 6000 x g で遠心分離する。沈殿 (粗材料 1) を一晚、ついで高い減圧で 5 時間乾燥する。

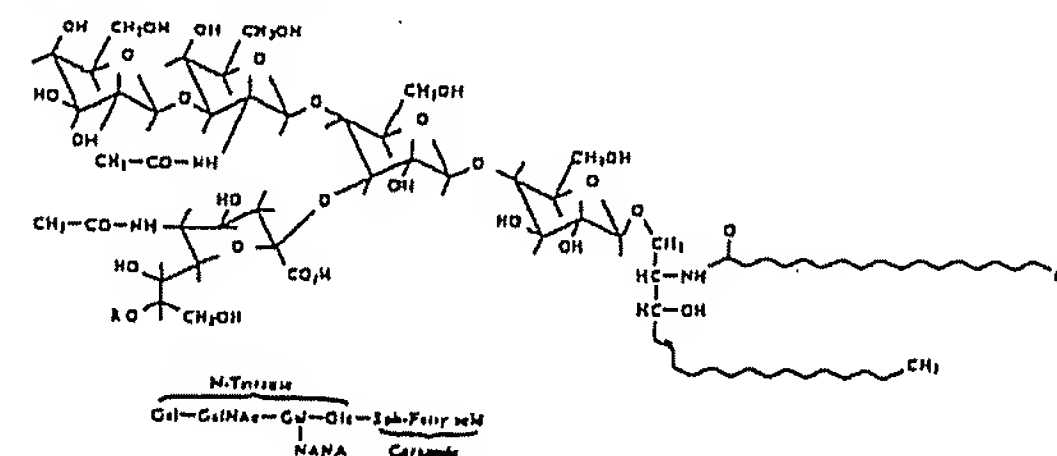
回収した粗材料 1 を、水/クロロホルム/メタノールの混合物の 10-18 ml に再懸濁する。pH を 5 N の NaOH で約 12 に調節する。混合物を 4-8 時間 38℃ から 43℃ の間に加熱し、そしてかき混ぜながら放置する。この時間の

終わりで冷却させた後、6 N の HCl で中和し、必要量の水/n-ブタノール/クロロホルムを加える。ついで混合物を 15-30 分間かき混ぜ、そして 2 から 4 時間のあいだ放置する。最後に低いほうの有機相を除去し、残った水相にアセトンと塩化ナトリウムを加え、約 30 分間かき混ぜ、そして +15℃ で 6000 x g で 20 分間遠心分離する (粗材料 2)。

この生成物を高真空で乾燥し、6-15 ml の無水メタノールに再懸濁し、そして時々溶液をかき混ぜながら約 2 時間加熱する。ついでその懸濁液を 6000 x g で迅速に遠心分離し、上澄み液を約 2 時間フリーザーに入れる。乳白色の溶液を 0℃ で 600 x g で遠心分離し、そして沈殿を高真空で乾燥する。生成物を 1 N の水酸化ナトリウムの中へ集め、室温で少なくとも 1 時間のあいだ溶液と接触させる。最後に懸濁液の pH を約 9 とし、適量の蒸留水に対して 10 k d の分子量をカットする膜を通して透析する。適量の塩化ナトリウムとアセトンを加え、そして透析液を +5℃ で 6000 x g で遠心分離し、ついで高真空で乾燥する (最終生成物)。サンプルを 10 mM の硝酸緩衝液 (pH 7.2) にとり、+121℃ で 30 分間滅菌することにより滅菌最終生成物を得る。

実施例 29 モノシアログングリオシッド GM₁ (サイゲン [Sygen]) の製造

モノシアログングリオシッドとはウシの脳から得た生物学的物質であって、次の構造式をもっている。



GM₁: R = R' = H
1'-アルファー NeuAc-GlcOSE, Cer

モノシアロテトラヘキシルガングリオシッド GM₁ のナトリウム塩は、Tettawanti et al., Biochimica et Biophysica Acta, 296(1973) 160-170 に記載の方法により高度に純粋な生産物として単離することが可能であり、又は Fidi S.p.A., Abano Terme, Italy から入手可能である。

凍結したウシの脳から出発し、溶液抽出、液-液分別、メタノリシスによるリン脂質の除去および分子ろ過に基づく多工程の分離手段により高度に精製されたガングリオシッド混合物を得る。このものは参照作業標準で公知の構造および純度と比較して約 18 から 24% の間の百分率のガングリオシッド GM₁ を含有している。この化合物は、2 工程の高性能液体クロマトグラフィーの手段により混合物から理論値の約 75% の収量で分離される。得られた物質はナトリウム塩とし、透析しそして沈殿させる。この沈殿を水に再溶解し、滅菌ろ過し、そして凍結乾燥する。得られた化合物の純度は、参照作業標準で公知の構造および純度と比較しての光デンストメトリーで乾燥重量で 98% より大である。

実施例 30 ガングリオシッド内部エステル混合物 (シナシアル [Sinassial]) の製造

ウシの脳からの抽出によってガングリオシッド混合物を得、この混合物 5 g をジメチルスルホキシド 50 ml に溶かす。次に無水スチレン型の樹脂 (スルホン酸、50-100 メッシュ、H⁺型) 4 g を加え、得られた混合物を室温で 30 分間かき混ぜる。イオン交換樹脂によるこの処理は、すべてのガングリオシッドのカルボキシレート基を -COOH (カルボキシル) 基に変換する。カルボキシレート基の完全な変換は、例えば原子吸収のような適当な物理的分析方法で確認される。次に樹脂を吸引ろ過し、得た溶液を 1.5 g のジシクロヘキシルカルボジイミドで処理し、1 時間放置する。

沈殿したジシクロヘキシル尿素はろ過して除去し、残った溶液をアセトン 100 ml で処理すると内部エステルガングリオシッド誘導体の沈殿を生じる。この方法での内部エステル生成物収量は 4.6 g (理論値の約 90-95%) である。
(神経ガイドチャネルの製造)

実施例 31

糸が HYAFF11 (HY の全ベンジルエステル、100% エステル化) から成り立つマトリックスが HYAFF11 p75 (75% エステル化された HY のベンジルエステル) であるような糸/ポリマー (高分子) マトリックス複合構造のガイドチャネルは次の方法で得られる。

破損における最小引っ張り強度が 1.5 g/デニールで 19% の伸びのある 250 デニールの全 HYAFF11 エステルの糸を、複合ガイドチャネルの所望の内径であるところの 1.5 mm の外径をもつ電気研摩した AISI 316 のスチール棒の回りに巻き付ける。織られた製品は、作動部分について 16 のローダーのある機械を使って得られる。

糸で巻かれた管がスチール棒の上にあるような糸を、図 1 に示すような位置に置く。この装置を 115 rpm の速度で回転させる。135 mg/ml の濃度の HYAFF11 p75/ジメチルスルホキシドを、回転系の上に広げる。過剰の溶液をスパーテルで除去し、該糸を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。上記の方法で製作した通路 (チャネル) の長さは 20 mm、厚さは 300 μm、内径は 1.5 mm、そして重量は 40 mg であり、20 mg/cm に相当する。

実施例 32

糸が HYAFF11 (80%) と HYAFF11 p75 (20%) の混合物から成り、マトリックスが HYAFF11 p75 から成る糸/ポリマーマトリックスの複合構造のガイドチャネルを次のようにして製作する。

破損での最小引っ張り強度が 1.5 g/デニールで 19% の伸張度のある 250 デニールの全 HYAFF11 エステルの糸、及び破損での最小引っ張り強度が 0.9 g/デニールで 20% の伸張度のある 150 デニールの HYAFF11 p75 の糸をツイスト機構の手段で結合させて、2 成分から成る糸を形成する。この糸を、複合管の所望の内径であるところの 1.5 mm の外径をもつ電気研摩した AISI 316 のスチール棒の回りに巻き付ける。織られた製品は、作動部分について 8 つのローダーのある機械を使って得られる。

織られた管がスチール棒の上にあるような系を、図1に記載の装置の位置に置く。この装置を115rpmの速度で回転させる。135mg/mlの濃度のHYAFF11p75/ジメチルスルホキシドを、回転系の上に広げる。過剰の溶液をスパーテルで除去し、該系を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャンネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。

上記の方法で製作した通路(チャンネル)の長さは20mm、厚さは400 μ m、内径は1.5mm、そして重量は30mgであり、15mg/cmに相当する。

実施例33

糸が全HYAFF11混合物から成り、マトリックスがHYAFF11p75から成る複合構造の糸/ポリマーマトリックスの複合構造のガイドチャンネルを次のようにして製作する。

破増での最小引っ張り強度が1.5gr/デニールで19%の伸張度のある250デニールの全HYAFF11エステルの糸を、複合管の所望の内径に等しい3mmの外径をもつ電気研摩したAISI316のスチール棒の回りに巻き付ける。管は、作動部分について16のローダーのある機械を使って織られる。

織り合わされた糸の管がスチール棒の上にあるような系を、図1に記載の装置の上に置く。但し糸の分布するローダーのところに溶液スプレーがある。この装置を115rpmの速度で回転させる。135mg/mlの濃度のHYAFF11p75/ジメチルスルホキシドを、スチール棒の長さに沿って動くとき30秒間スプレーを活動化させて分布させる。この間スプレーは、製作中のガイドチャンネルの長さに沿って4回移動する。該系を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャンネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。

上記の方法で製作した通路(チャンネル)の長さは20mm、厚さは180 μ m、内径は3mm、そして重量は24mgであり、12mg/cmに相当する。

実施例34

糸が全HYAFF11から成り、マトリックスがHYAFF11p75から成

り、ヒト神経成長因子を含有する糸/ポリマーマトリックスの複合構造のガイドチャンネルを次のようにして製作する。

破増での最小引っ張り強度が1.5gr/デニールで19%の伸張度のある250デニールの全HYAFF11エステルの糸を、複合管の所望の内径であるところの1.5mmの外径をもつ電気研摩したAISI316のスチール棒の回りに巻き付ける。織られた製品は、作動部分について16のローダーのある機械を使って得られる。

織られた管がスチール棒を覆うような系を、図1に記載の装置に適合させる。この装置を115rpmの速度で回転させる。135mg/mlの濃度のHYAFF11p75/ジメチルスルホキシドで、その中に適当量例えばヒトNGFのサブユニットBの0.5mgを溶解したものを回転系の上に広げる。過剰の溶液をスパーテルで除去し、該系を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャンネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。

上記の方法で製作した通路(チャンネル)の長さは20mm、厚さは300 μ m、内径は1.5mm、そして重量は40mgであり、20mg/cmに相当する。

実施例35

糸が全HYAFF11から成り、マトリックスがHYAFF11p75から成り、CNTF成長因子を含有する糸/ポリマーマトリックスの複合構造のガイドチャンネルを次のようにして製作する。

破増での最小引っ張り強度が1.5gr/デニールで19%の伸張度のある250デニールの全HYAFF11エステルの糸を、複合ガイドチャンネルの所望の内径であるところの1.5mmの外径をもつ電気研摩したAISI316のスチール棒の回りに巻き付ける。織られた製品は、作動部分について16のローダーのある機械を使って得られる。

織られた管とスチール棒から成る系を、図1に記載の装置上に置く。この装置を115rpmの速度で回転させる。135mg/mlの濃度のHYAFF11p75/ジメチルスルホキシドで、その中に適当量例えば0.5mgのCNTF

成長因子を溶解したものを回転系の上に広げる。過剰の溶液をすべてスパーテルで除去し、該系を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャンネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。

上記の方法で製作した通路(チャンネル)の長さは20mm、厚さは300 μ m、内径は1.5mm、そして重量は40mgであり、20mg/cmに相当する。

実施例36

糸が適当量の成長因子BDNFを含有する全HYAFF11から成り、マトリックスがHYAFF11p75から成る糸/ポリマーマトリックスの複合構造のガイドチャンネルを次のようにして製作する。

破増での最小引っ張り強度が1.5gr/デニールで19%の伸張度のある250デニールの全HYAFF11エステルの糸を、複合ガイドチャンネルの所望の内径であるところの3mmの外径をもつ電気研摩したAISI316のスチール棒の回りに巻き付ける。織られた製品は、作動部分について16のローダーのある機械を使って得られる。

織られた管で覆われたスチール棒から成る系を、図1に記載の装置上に置く。そこには糸のローダーの代わりに溶液スプレーが置かれている。この装置を115rpmの速度で回転させる。135mg/mlの濃度のHYAFF11p75/ジメチルスルホキシドで、その中に適当量例えば0.5mgの成長因子BDNFを溶解したものを、スプレーをスチール棒に沿って前後に動かしながら30秒間管上に噴霧する。

この間、スプレーはガイドチャンネルの長さを4回動く。次に該系を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャンネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。

上記の方法で製作したガイドチャンネルの長さは20mm、厚さは180 μ m、内径は3mm、そして重量は24mgであり、12mg/cmに相当する。

実施例37

糸が全HYAFF11から成り、マトリックスがHYAFF11p75から成り且つ適当量のガングリオシッド混合物のクロナシアルを含有する糸/ポリマー

マトリックスの複合構造のガイドチャンネルを次のようにして製作する。

破増での最小引っ張り強度が1.5gr/デニールで19%の伸張度のある250デニールの全HYAFF11エステルの糸を、複合管の所望の内径であるところの1.5mmの外径をもつ電気研摩したAISI316のスチール棒の回りに巻き付ける。織られた製品は、作動部分について16のローダーのある機械を使って得られる。

織られた管で覆われたスチール棒から成る系を、図1に記載の装置上に置く。この装置を115rpmの速度で回転させる。135mg/mlの濃度のHYAFF11p75/ジメチルスルホキシドで、その中に適当量例えば20mgのガングリオシッド混合物クロナシアルを溶解したもので回転系を被覆する。

過剰の溶液をスパーテルで除去し、次に該系を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャンネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。

上記の方法で製作したガイドチャンネルの長さは20mm、厚さは300 μ m、内径は1.5mm、そして重量は40mgであり、20mg/cmに相当する。

実施例38

糸が適当量のモノシアログングリオシッド分画GM1のサイゲン(Sygen)を含有する全HYAFF11混合物から成り、マトリックスがHYAFF11p75から成る複合構造のガイドチャンネルを次のようにして製作する。

破増での最小引っ張り強度が1.5gr/デニールで19%の伸張度のある250デニールの全HYAFF11エステルの糸を、複合管の所望の内径であるところの3mmの外径をもつ電気研摩したAISI316のスチール棒の回りに巻き付ける。織られた製品は、作動部分について16のローダーのある機械を使って得られる。

織られた管で覆われたスチール棒から成る系を、図1に記載の装置上に置く。但し溶液スプレーが糸のローダーの代わりに置かれている。この装置を115rpmの速度で回転させる。135mg/mlの濃度のHYAFF11p75/ジメチルスルホキシドで、その中に適当量例えばサイゲンとして知られているモノ

シアログングリオシッド分画GM1の20mgを溶解させたものを、スプレーをスチール棒の長さに30秒間上下させてスプレーを活性化させることにより分布させる。この間、スプレーは棒の長さを4回動かす。この系を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。

上記の方法で製作したガイドチャネルの長さは20mm、厚さは180 μ m、内径は3mm、そして重量は24mgであり、12mg/cmに相当する。

実施例39

糸が適量の半合成ガングリオシッド混合物のシナシアルを含有する全HYAFF11混合物から成り、マトリックスがHYAFF11p75から成る複合構造のガイドチャネルを次のようにして製作する。

破壊での最小引っ張り強度が1.5gr/デニールで19%の伸張度のある250デニールの全HYAFF11の糸を、ガイドチャネルの所望の内径であるところの3mmの外径をもつ電気研磨したAISI316のスチール棒の回りに巻き付ける。織られた製品は、作動部分について16のローダーのある機械を使って得られる。

織り合わされた層で覆われたスチール棒から成る糸を、図1に記載の装置上に置く。但し溶液スプレーが糸のローダーの代わりに置かれている。この装置を115rpmの速度で回転させる。135mg/mlの強度のHYAFF11p75/ジメチルスルホキシドで、その中に適量例えば20mgのガングリオシッド混合物のシナシアル溶解したものを、スプレーをスチール棒の長さに30秒間上下させてスプレーを活性化させることにより分布させる。この間、スプレーは棒の長さを4回動かす。この糸を装置から取り除き、そして無水アルコールに浸す。凝固した後、ガイドチャネルをスチール棒から外し、適当な大きさに切断する。

上記の方法で製作したガイドチャネルの長さは20mm、厚さは180 μ m、内径は3mm、そして重量は24mgであり、12mg/cmに相当する。

本発明によって得られたガイドチャネルは例えば末梢神経再生のガイドとして

(実施例40参照)または末梢神経縫合術におけるアジュバント(実施例41参照)として用いられる。特に前者の用途に関してはこれらのガイドチャネル(ガイドチャネル)は縫合糸による破損神経部分に固定し得られ、そのためにガイドの機能やまたその内部に沿っての軸索成長の能力を損なうことがない。

本発明のガイドチャネル(ガイドチャネル)の用途を説明し、そしてそれらの機能と生吸収性(bioabsorbability)を示すために次の試験を行った。

実施例40

座骨神経を中央部で切断した体重各250-300グラムの10匹のラットを用いた。神経2mmを除去し、自発収縮後に8mmの間隔が残るようにした。身体を中心に近いところと末梢部分の両方の切断部位を、食塩水を満たしたガイドチャネル(ガイドチャネル; 実施例34に記載のもの)内に挿入した。このガイドをナイロン縫合糸(9-0)で場所固定した。手術後90日に、再生神経をテストした。その結果、本発明で作成したガイドチャネルは軸索成長を高めそして誘導できることが分かった。

再生された神経について更に調べたところこのガイドチャネルは生吸収性(図2)とそれによる神経機能の回復(図3)を示した。

実施例41

ガイドチャネルは、ラットにおける同種移植片の実験で末梢神経縫合におけるアジュバントとして有用であった。この外科技術は次の理由によって特に興味があり、そして有利に用いられる。

i) それは、通常は再結合部位の回りで吸収されずに残っている縫合材料の量を減少する;

ii) それは、神経それ自体にとって異物である細胞要素例えば繊維芽細胞に対する障害を提供する; そして

iii) それは筒型のガイドチャネルなので、再接続部への損傷を受けた神経からの異なったサイズの接続を可能とする。

本発明のガイドチャネル(特に実施例31に記載のガイドチャネル)の生吸収性と機能を評価するために設計された実験が、体重300グラムの同族のラット

で行われた。記載の技術により同種移植が行われた。被移植側のラットの座骨神経を切断して約15mmの間隔を作った。移植側(ドナー)のラットの座骨神経を縫合を用いずに、但し損傷神経と接合部をガイドチャネルの中に保持して間隔の中へ入れた。次に接合部を、何等の間隔を残さずに2つの神経上脈の縫い目でガイドチャネルに縫合した。

神経縫合を行った10匹のラットの群において得られた一次的結果は、ガイドチャネルがほとんど完全に吸収される時点である20日後において接合部のレベルでの再生軸索(図5)および優れた神経再結合(図4)を示した。この実験は更にガイドチャネルが接着の形成を防ぎ得ることをも示した。

(本発明のガイドチャネルの応用)

本発明の複合ガイドチャネル(ガイドチャネル)は末梢神経再生、特に外傷事件や手術手段で阻害された神経の連続性を回復するための顕微手術や、また損傷した腿の処理とくに腿縫合術に由来する腿機能回復の形成外科手術、そして特に外傷事件や手術手段に付随する手や足の外科手術における末梢神経再生のための医療用機器に用いることができる。

本発明は以上に述べた如くであるが、それはいろんな方法によって変更が可能であることは明白である。そのような変更は本発明の精神および範囲からの逸脱とみなされるべきでなく、当業者に明白なすべてのそのような修正は次に示す請求の範囲の中に包含されると意図されるべきである。

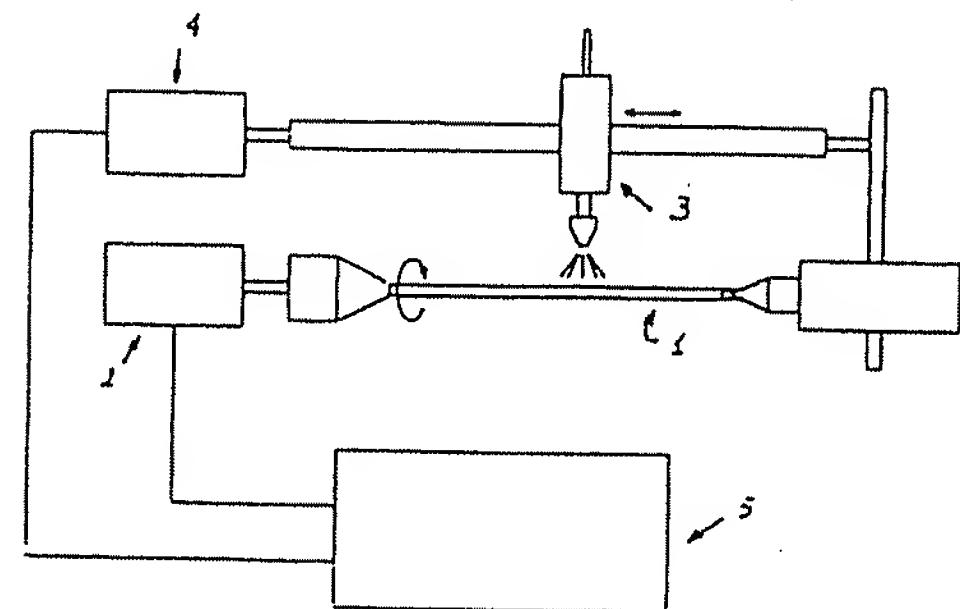


FIGURE 1



FIGURE 2

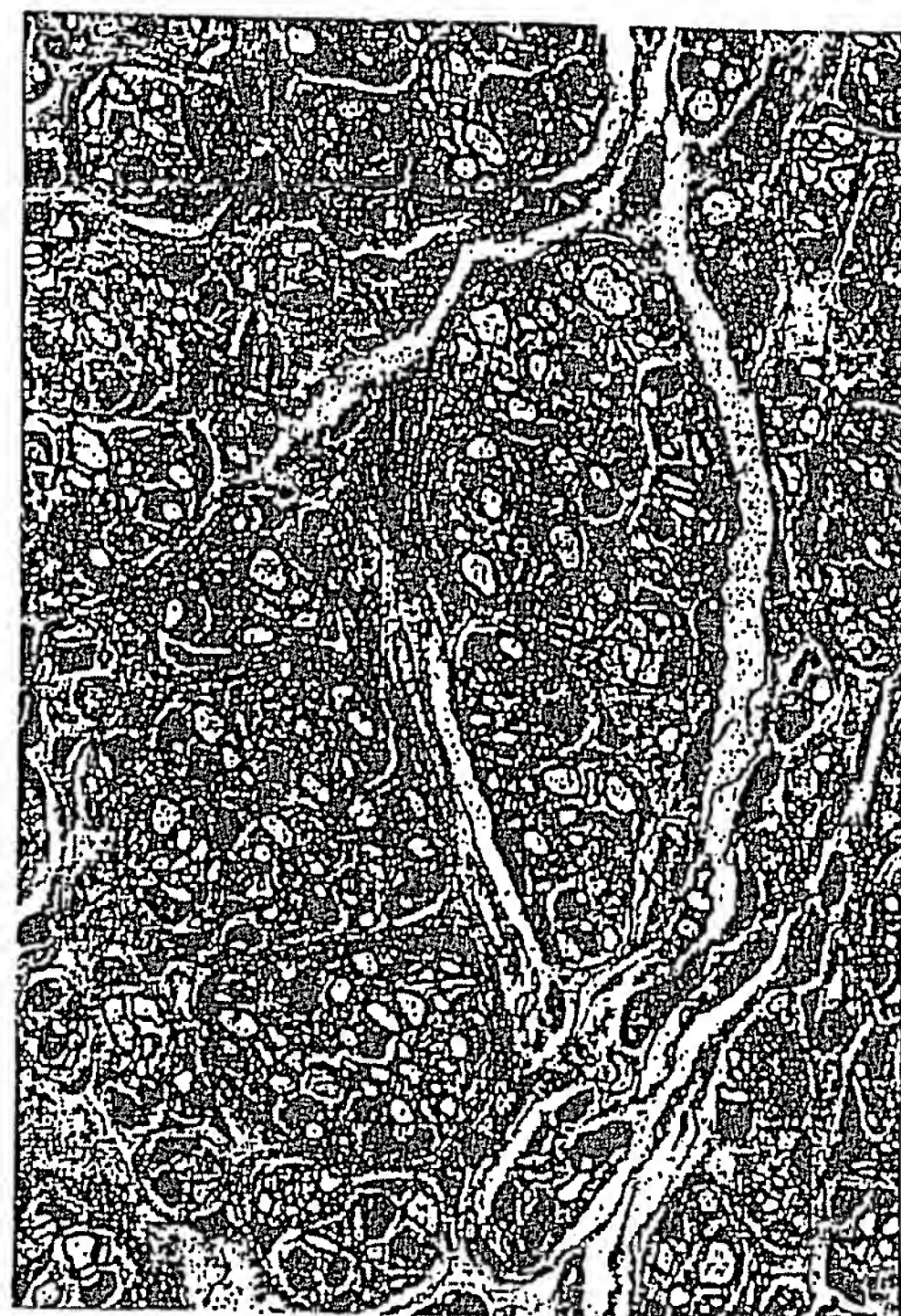


FIGURE 3

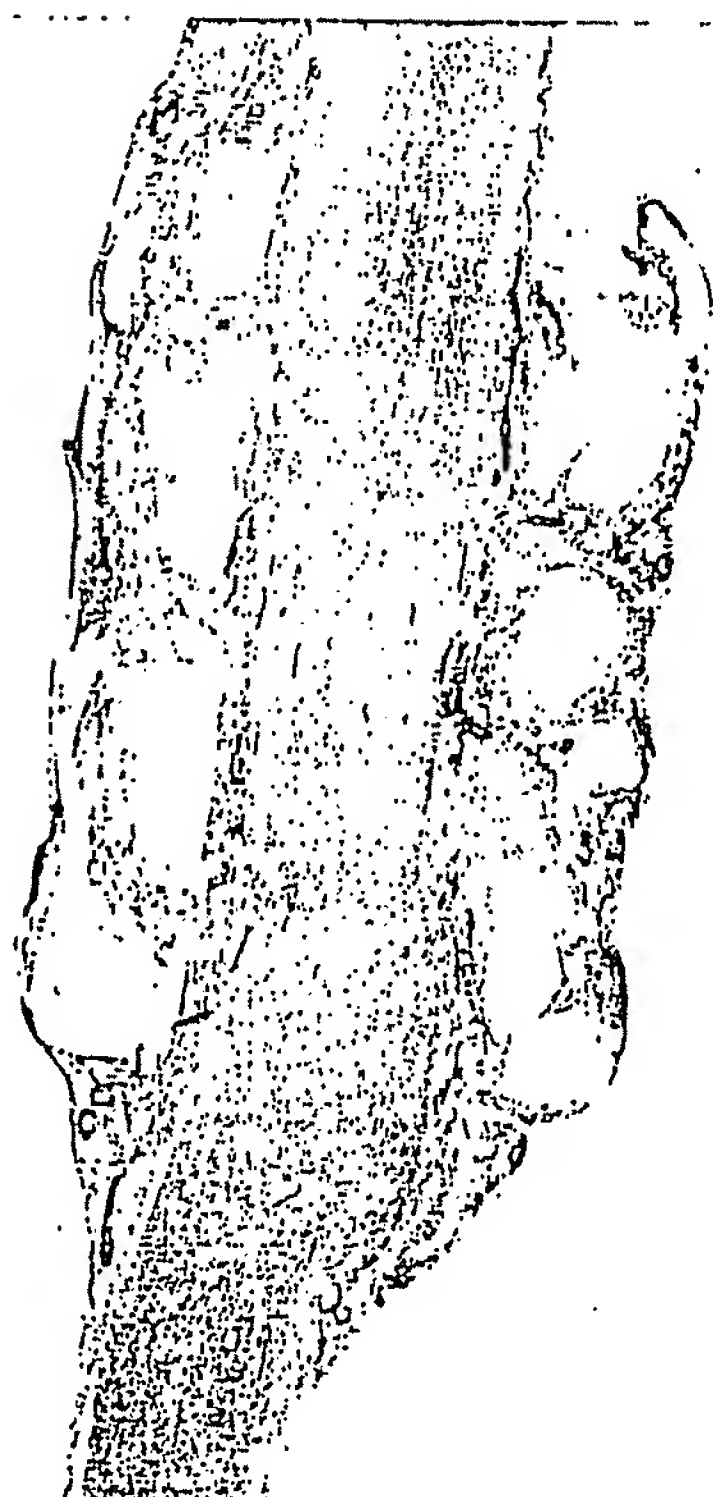


FIGURE 4

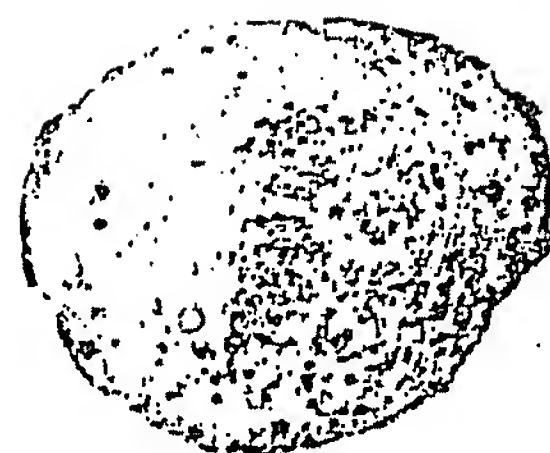


FIGURE 5

国際調査報告		International Application No. PCT/EP 93/02066
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 5 A61L31/00 A61B17/11		
According to International Patent Classification (IPC) or to both a national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 5 A61L A61B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Excluded data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Referred to class No.
P, X	WO, A, 92 13579 (FIDIA) 20 August 1992 see claims 1-24	1-21
P, Y	WO, A, 93 11805 (M.U.R.S.T.) 24 June 1993 see claims 1, 2, 12-20, 24-26; figure 2	1-17
Y	WO, A, 90 05552 (BROWN UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION) 31 May 1990 cited in the application see page 11, line 1 - line 5 see page 11, line 30 - line 33; claims 1, 4, 5	1-17
Y	WO, A, 89 00431 (BIOCON OY) 26 January 1989 see page 4, line 9 - line 27 see page 7, line 35	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of text C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed as above.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general field of the art to which the invention relates "B" prior document published on or after the international filing date "C" document which may have priority over the invention (if it is a document of prior art) or which is cited for other reasons (e.g. for background information) "D" document referred to in the description, but not cited as prior art "E" document published prior to the international filing date but later than the priority date of the invention		
"F" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to substantiate the priority or novelty of the invention "G" document of prior art or reference; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step unless the document is taken into account "H" document of prior art or reference; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step unless the document is considered in its own right or in view of other documents, each combination being referred to a person skilled in the art. "I" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
18 November 1993		02.12.93
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 2911, 7000 La Haye, The Netherlands Tel. (+31-70) 340-2245, Telex 31 631 upa nl, Fax (+31-70) 340-2014		Authorized officer PELTRE, C

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1979)

国際調査報告		International Application No. PCT/EP 93/02066	
Patent documents cited in search report	Publication date	Patent family number(s)	Publication date
WO-A-9213579	20-08-92	AU-A- 1189792	07-09-92
WO-A-9311805	24-06-93	AU-B- 3346793	19-07-93
WO-A-9005552	31-05-90	US-A- 5011486	30-04-91
		AU-A- 4620589	12-06-90
WO-A-8900431	26-01-89	AU-B- 606193	31-01-91
		AU-A- 2077988	13-02-89
		DE-A- 3875096	05-11-92
		EP-A, B 0323993	19-07-89
		JP-T- 2501040	12-04-90

Form PCT/ISA/210 (family sheet) (July 1979)

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AT, AU, BB, BG, BR, CA, CH, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, HU, J P, KP, KR, KZ, LK, LU, MG, MN, MW, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SK, UA, US, VN

(72)発明者 ロメオ, アウレリオ
イタリア、00161ローマ、ピアレ・イッ
ボクラーテ93番